

治咳川贝枇杷滴丸镇咳平喘作用研究

侯媛媛¹, 李若洁², 程彬峰¹

1 南开大学 药学院, 天津 300071

2 南开大学 生命科学学院, 天津 300071

摘要 **目的:** 研究治咳川贝枇杷滴丸对豚鼠的镇咳、平喘作用。**方法:** 采用豚鼠离体气管平滑肌收缩实验和组胺引喘的活体动物实验对治咳川贝枇杷滴丸的平喘作用进行评价。在离体实验中测定药物对乙酰胆碱引起的气管平滑肌收缩的收缩曲线, 计算收缩百分率; 在整体动物实验中测定给药后豚鼠的延喘时间用来表征药物平喘作用的强弱。同时采用枸橼酸诱发豚鼠咳嗽模型, 通过记录引咳后 5 min 内的咳嗽次数, 观察治咳川贝枇杷滴丸的镇咳作用。**结果:** 治咳川贝枇杷滴丸能有效减少豚鼠的咳嗽次数, 显著延长咳嗽潜伏期; 对豚鼠离体气管收缩的抑制效果较好; 对组胺致喘豚鼠的哮喘潜伏期有明显的延长作用。**结论:** 治咳川贝枇杷滴丸具有良好的镇咳、平喘药理活性, 为药物的临床应用和进一步开发提供了依据。

关键词 治咳川贝枇杷滴丸; 镇咳; 平喘

中图分类号: R974

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2010) 03-00194-04

Antitussive and anti-asthmatic effect of Zike Chuanbei Pipa Diwan in guinea pigs

HOU Yuan-yuan¹, LI Ruo-jie², CHENG Bin-feng¹

1 College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China;

2 College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

Abstract **Objective:** To study antitussive and anti-asthmatic effect of Zhike Chuanbei Pipa Diwan (ZCPD) in guinea pigs. **Methods:** Guinea pig models of isolated trachea *in vitro* and histamine-induced asthma *in vivo* were used to investigate the anti-asthmatic effect of ZCPD. *In vitro* experiment, concentration-response curves of contractile isolated trachea induced by acetylcholine (Ach) were obtained and the concentration producing 50% of the maximal response was determined. *In vivo* experiment, the latent period of animals after administration was used to demonstrate the anti-asthmatic effect. Meanwhile, the animal cough model induced by citric acid was developed to evaluate the antitussive effect. Qualified guinea pigs were divided into five groups randomly: high, medium, low concentration ZCPD groups, pentoxifyverine positive control group, and control group. The number of cough during three minutes was recorded after the cough was induced. **Results:** ZCPD decreased the frequency of cough and prolonged the latency of induced cough. Moreover, it significantly inhibited Ach-induced trachea contractions and prolonged the latent period of asthma by histamine in guinea pigs. **Conclusion:** ZCPD has remarkable antitussive and anti-asthmatic effects, which provides the evidence for clinical application and further development.

Key words: Zhike Chuanbei Pipa Diwan (ZCPD); antitussive; anti-asthmatic

治咳川贝枇杷滴丸是由枇杷叶、平贝母、桔梗、水半夏、薄荷脑等 5 味中药组成, 具有宣肺降气、清热化痰的功效。临床上主要用于痰热郁肺所致咳嗽, 症见咳嗽、咯痰、咽干、咽痛、发热, 全身不适; 感冒及支气管炎见上述症候者。为验证其疗效

和为药物的进一步开发提供实验依据, 我们采用豚鼠离体气管平滑肌收缩模型、组胺引喘的豚鼠哮喘模型以及致咳化学物质诱发豚鼠的试验性咳嗽模型, 进行了治咳川贝枇杷滴丸的平喘、镇咳作用的药效学研究, 科学评价其临床治疗作用。

收稿日期: 2010-02-25

作者简介: 侯媛媛 (1977—), 女, 吉林辽源人, 讲师。E-mail: houyy@nankai.edu.cn

1 材料与仪器

1.1 药品及试剂

治咳川贝枇杷滴丸(批号 638002)由天津中新药业集团股份有限公司第六中药厂提供;沙丁胺醇及乙酰胆碱购自 Alfa Aesar 公司;盐酸普萘洛尔片为天津力生制药股份有限公司产品;枸橼酸喷托维林片(批号 0811017)为天津力生制药股份有限公司产品;其余试剂均为分析纯。

1.2 动物

英国种豚鼠,体质量(150 ± 10)g,雌雄各半,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证编号 SCXK(京)2008-0003。

1.3 仪器

恒温平滑肌槽、张力传感器以及生物信号采集系统(盟泰生物技术公司),超声波雾化器(亚都科技有限公司)。

2 方法

2.1 豚鼠离体气管收缩实验^[1,2]

豚鼠击头致昏,剥取气管,剪成气管片(4 mm×8 mm),并固定于盛有 Krebs-Henseleit 缓冲液(20 mL)的 37℃ 恒温管中,持续通入 95% O₂ 和 5% CO₂ 的混合气体,静息负荷 1 g 重物后,加入乙酰胆碱(Ach),记录最大收缩效应,作为空白对照。经 Krebs-Henseleit 缓冲液反复冲洗,待肌张力恢复至基线后,加入待测药物和系列稀释的 Ach,分别测量收缩曲线,计算收缩百分率。

收缩百分率=(给药前曲线高度-给药后曲线高度)/给药前曲线高度×100%

2.2 磷酸组胺致敏的豚鼠哮喘实验^[3]

取(150±10)g 豚鼠,雌雄各半,置玻璃钟罩内,以超声喷雾器喷入(0.5 mL/min)0.1%磷酸组胺+2%乙酰胆碱溶液 10 s,逐个记录豚鼠产生哮喘的时间,并将选出的哮喘豚鼠随机分为 7 组($n=6$),分别为空白对照生理盐水组;阳性对照沙丁胺醇高、中、低剂量组以及治咳川贝枇杷滴丸高、中、低剂量组。阳性药物沙丁胺醇组及空白对照生理盐水的给药方式为引喘前喷雾给药。每天 2 次 ig 给药,持续一周。最后一次给药 2 h 后,按上述条件引喘,记录豚鼠潜伏期。

2.3 枸橼酸致敏的豚鼠镇咳实验^[4,5]

取(150±10)g 豚鼠,雌雄各半,置玻璃钟罩内,以超声喷雾器喷入(0.5 mL/min)17.5%枸橼酸

40 s,记录 5 min 内豚鼠咳嗽次数,并将选出的豚鼠(5 min 内咳嗽次数 10~30)随机分为 5 组($n=6$),分别为空白对照生理盐水组;阳性对照枸橼酸喷托维林组;治咳川贝枇杷滴丸高、中、低 3 个剂量组。每天 2 次 ig 给药,持续一周。最后一次给药 2 h 后,按上述条件重新致敏,记录 5 min 内咳嗽次数。镇咳效果以豚鼠咳嗽次数减少百分比来表示。

3 结果

3.1 对豚鼠离体气管收缩的抑制作用

实验结果如图 1 所示,空白对照组的 EC₅₀ 值为 2.11×10^{-5} mol/L,治咳川贝枇杷滴丸(5 mg/mL)的 EC₅₀ 值为 1.29×10^{-4} mol/L,为空白对照的 6.11 倍;阳性对照药物沙丁胺醇(0.024 mg/mL)的 EC₅₀ 值为空白对照的 3.73 倍。结果表明,治咳川贝枇杷滴丸对乙酰胆碱引起的豚鼠离体气管平滑肌收缩有较好的解痉作用。

为了进一步研究活性成分的作用机制,在加入药物前选用了非特异性 β 受体阻断剂普萘洛尔预处理 20 min,用于阻断 β_2 受体激动药与受体的结合,再考察阻断后的药物对豚鼠离体气管平滑肌的作用效果。实验结果表明,阻断 β 受体通路后阳性药物沙丁胺醇的药物作用曲线明显左移,阻断效果良好。配体-受体通路被阻断后,治咳川贝枇杷滴丸的 EC₅₀ 值为 2.44×10^{-5} mol/L,接近于空白对照组,说明治咳川贝枇杷滴丸的解痉作用主要是通过 β 受体相关信号通路实现的。

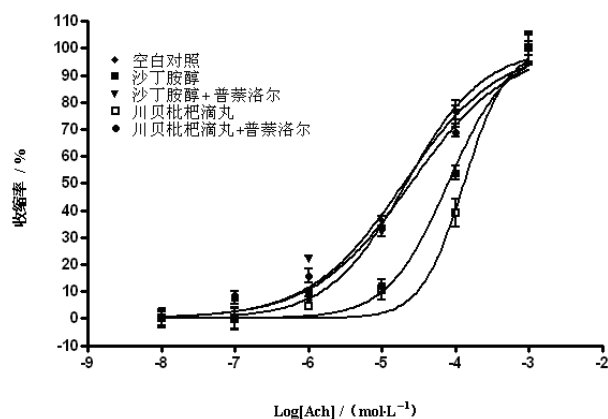


图 1. 治咳川贝枇杷滴丸对豚鼠离体气管收缩的抑制效果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig.1 Effect of ZCPD on the dose-response curves of Ach contracting tracheal of guinea pigs ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.2 对枸橼酸诱发豚鼠咳嗽的抑制作用

连续给予治咳川贝枇杷滴丸一周后,高剂量和中剂量治咳川贝枇杷滴丸均能有效减少豚鼠的咳嗽次数。使用 GraphPad Prism 5.0 软件对数据进行多样本配对 *t* 检验的统计学分析,表明高剂量和中剂量与空白对照组比较,具有统计学意义。表 1 中数据显示治咳川贝枇杷滴丸对枸橼酸致敏豚鼠具有显著的镇咳作用。

表 1 治咳川贝枇杷滴丸对枸橼酸致敏豚鼠的镇咳作用
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of ZCPD on cough model of guinea pigs induced by citric acid ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	给药剂量 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	镇咳率 / %
空白对照	—	— 28.31±10.41
枸橼酸喷托维林	20.0	92.95± 8.08**
治咳川贝枇杷滴丸	268.4	70.33± 7.02***
	89.5	33.16± 8.12**
	29.8	— 18.67±10.60

与空白对照比较: *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$;

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$ vs control group

3.3 对组胺致敏豚鼠的抗哮喘作用

实验结果如表 2 所示,高、中、低不同剂量治咳川贝枇杷滴丸均能有效延长豚鼠的引喘潜伏期。使用 GraphPad Prism 5.0 软件进行多样本配对 *t* 检验的统计学分析,各组与空白对照组比较,均具有统计学意义,表明治咳川贝枇杷滴丸对组胺致喘豚鼠的哮喘潜伏期有明显的延长作用。

表 2 治咳川贝枇杷滴丸对组胺致喘豚鼠的平喘作用
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of ZCPD on asthma model of guinea pigs induced by sprayed histamine ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	给药剂量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	延喘时间 / %
空白对照	—	— 14.76±31.07
沙丁胺醇	1.92	142.01±34.21***
	1.92×10^{-2}	72.78±10.29**
	1.92×10^{-4}	38.31±10.15*
治咳川贝枇杷滴丸	268.4	192.80±22.96***
	89.5	94.20± 8.44**
	29.8	— 16.75±21.25

与空白对照比较: *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$;

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs control group

4 讨论

咳嗽是呼吸道感染等疾病的常见病症,严重地影响人们的健康及工作。治咳川贝枇杷滴丸的处方

中,平贝母、水半夏、桔梗、枇杷叶均是中医治疗呼吸道疾病的常用药物。现代医学研究表明,枇杷叶中所含的枇杷苷、乌索酸和总三萜酸是其止咳作用的主要成分^[6];平贝母的总生物碱部分具有非常显著的镇咳作用^[7],其中西贝素单体成分被认为是具有开发前途的天然高效止咳药;半夏水提物的镇咳效果要明显高于醇提物^[8];桔梗皂苷也表现出一定的镇咳作用,其镇咳的 ED_{50} 值为 6.4 mg/kg ^[9]。我们在实验中采用枸橼酸引咳的豚鼠动物模型对治咳川贝枇杷滴丸的止咳效果进行了考察,结果显示此复方滴丸具有良好的镇咳作用,推测是几种中药中的镇咳活性成分共同发挥作用的结果,这也符合中药多物质、多靶点、多种机制的作用特点。

治咳川贝枇杷滴丸的平喘作用我们采取了豚鼠离体气管收缩实验和组胺引喘的豚鼠动物实验从组织和整体动物 2 个水平进行了验证。结果显示,治咳川贝枇杷滴丸对乙酰胆碱引起的豚鼠离体支气管平滑肌收缩有明显的松弛作用,对组胺导致的豚鼠哮喘有明显的缓解作用,可显著延长豚鼠呼吸困难与引喘潜伏期。同时我们也发现,当 β_2 受体通路被阻断后,治咳川贝枇杷滴丸的平喘作用消失。此现象充分说明治咳川贝枇杷滴丸是通过 β_2 受体通路发挥其解除平滑肌痉挛治疗哮喘的作用的。本实验室也利用自建的 β_2 受体激动药筛选体系^[10]对方中的几味药材进行了活性筛选,结果水半夏显示了较强的 β_2 受体激动药,其余几味药材均显示阴性结果。有报道半夏中含有麻黄碱等生物碱^[11,12],此类生物碱具有较强的 β_2 受体激动活性,推测这是水半夏显示较强活性的主要原因,而进一步的研究确证工作还在进行中。

参考文献:

[1] Eiji H, Sato T, Hirota K, *et al.* The relaxant effect of propofol on guinea pig tracheal muscle is independent of airway epithelial function and β -adrenoceptor activity [J]. *Anesth Analg*, 1999, 89(1): 191-196.

[2] 赵 益, 朱卫丰, 刘红宁, 等. 贝母辛平喘作用及机制研究[J]. *中草药*, 2009, 40(4):597-601.

[3] Vogel H G, Vogel W H. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays* [M]. Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1997.

[4] 陈 奇. *中药药理研究方法学*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.

[5] 赵 益, 朱卫丰, 刘红宁, 等. 贝母辛平喘作用及机制

- 研究[J]. 中草药, 2009, 40(4):597-601.
- [6] 王静波, 杨必坤, 张 宏, 等. 枇杷花提取物止咳作用研究[J]. 中草药, 2009, 40(7):1106-1109.
- [7] 李 萍, 季 晖, 徐国钧. 贝母类中药的镇咳祛痰作用研究[J]. 中国药科大学学报, 1993, 24(6):360-362.
- [8] 李 斌, 程秀民, 周永妍, 等. 半夏的研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2010, (1):47-48.
- [9] 赵耕先. 桔梗不同部位的祛痰作用[J]. 中药材, 1989, 12(1):38-39.
- [10] 杨 洋, 王 超, 潘鹏炜, 等. 基于细胞的 β_2 肾上腺素受体激动剂功能性筛选体系在中草药中的应用[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2009, 42(2):105-112.
- [11] 吴 皓, 谈献和, 蔡宝昌, 等. 半夏姜制对麻黄碱含量的影响[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(3):157-159.
- [12] 杨玉琴, 张丽艳. 高效液相色谱法测定不同半夏炮制品中麻黄碱的含量[J]. 贵州医药, 2001, 25(9):846.

中草药杂志社 售过刊信息

天津中草药杂志社, 经国家新闻出版总署批准, 于 2009 年 8 月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、Chinese Herbal Medicines、《现代药物与临床》(2009 年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009 年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿, 欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本: 1974-1975 年、1976 年、1979 年、1988-1993 年 (80 元/年), 1996、1997 年 (110 元/年), 1998 年 (120 元/年), 1999 年 (135 元/年), 2000 年 (180 元/年), 2001-2003 年 (200 元/年), 2004 年 (220 元/年), 2005 年 (260 元/年), 2006-2008 年 (280 元/年), 2009 年 (400 元/年);

《中草药》增刊: 1996 年 (50 元), 1997 年 (45 元), 1998 年 (55 元), 1999 年 (70 元), 2000、2001 年 (70 元), 2002-2007 年 (65 元/年), 2008、2009 年 (55 元/年)。

《现代药物与临床》合订本: 2009 年 (100 元/年)。

《国外医药·植物药分册》合订本: 1996~2008 年 (80 元/年), 2006~2008 年 (90 元/年)。

《药物评价研究》2009 年单行本, 每册 15.00 元

《中文科技资料目录·中草药》: 1993-2006 年合订本 (全套 2040 元), 2007-2008 年单行本, 每册定价 30.00 元, 全年订价 210.00 元 (6 期+年索引),

天津中草药杂志社

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号

电 话: (022) 27474913 23006821

电子信箱: zcy@tiprpress.com

邮 编: 300193

传 真: (022) 23006821

网 址: www.中草药杂志社.中国
www.tiprpress.com